

審査の結果の要旨

氏名 富永 憲子

クロマトグラフィーは、分離分析手段として今や医・工・農・薬等のほとんどすべての分野で汎用されており、現在の科学研究や社会生活を支える基盤となる技術の1つであるといっても過言ではない。技術の進歩により、クロマトグラフィーの高感度、高選択性、高速性、自動化、小型化が達成されてきたが、生命科学やナノテクノロジーの研究領域では、より一層の高分離能をもつ分析法が渴望されている。例えば、環境や生体中に存在する分子量の小さい化合物の分離分析、さらには高分子化合物やナノ粒子のような比較的大きな物質の効率的な分離精製方法が望まれている。そこで、本研究は充填剤のない長い未修飾キャピラリーカラムを用い、弱い相互作用力を利用した液体クロマトグラフィーシステムを構築し、従来の液体クロマトグラフィーシステムでは分離が困難な物質の分離を可能とする方法の確立を目的とする。以下に、各章ごとに対する審査結果の概要を述べる。

第1章の序論では液体クロマトグラフィーの発展・歴史に基づいて、ナノマイクロ分析とキャピラリークロマトグラフィーの研究をまとめている。液体クロマトグラフィーは分離を達成するために、主な固定相と移動相の両方に様々な工夫が必要になる。例えば、固定相については、素材、表面修飾、サイズ、形、表面積などが分離性能に影響を与える。移動相については、その組成、pH、イオン強度、成分の分配比率などが分離制御因子になる。本研究は充填剤を充填していない長い未修飾キャピラリーカラムを用い、かつ移動相が大きな分離影響因子にならない液体クロマトグラフィーによる分離方法について検討を行っており、独創的な研究内容であることを示している。

第2章では未修飾キャピラリーを分離カラムとして用い、内径数 10 μm のキャピラリーを移動相として超純水を利用した分析システムを構築した結果を述べている。このような微小空間では、正確かつ安定な送液速度 (nL/min)、微量の試料注入(nL/injection)、試料拡散の最小化を図る必要がある。これらのパラメーターを制御できるシステムを開発し、低分子のチオウレアの理論段数で装置の性能を検討した。カラム (9~72m) が長いほど、移動相の流速(1.3 mm/s~)

が低いほど、理論段数(～620万段)が高くなることを示している。これにより、長い未修飾キャピラリーカラムで、低分子物質と高分子物質を同時に分離することを可能にした。

第3章では構築した長い未修飾キャピラリーカラムシステムの分離メカニズムの解析を行った。本研究で用いた長い中空キャピラリーに関して、溶出体積と保持時間の関係を層流特性に基づいてモデル化し、溶出時間を評価した。分子拡散が大きく、カラム径方向に均一な分布を与える低分子のチオウレアの移動速度は水の平均流速に等しいことを仮定した。一方、高分子のタンパク質では溶出挙動が異なる。分析条件を変化させ、モデルの計算式から検討結果を説明することに成功した。未修飾キャピラリーカラムは表面に負電荷のシラノール基(-Si-OH-)が存在し、電気二重層が形成されるため、負に荷電している物質はカラムの内壁から排除され、カラム内の中心に分布するようになる。試料の径方向への分布が正規分布であると考え、内壁から中心へ試料の濃度が高くなり、カラムの入口から出口へ試料の濃度がカラムの中心に濃縮されて分布した。このカラム中心に試料が濃縮されることが、弱い相互作用の長いキャピラリーカラムを用いたクロマトグラフィーにおいて、高分離能が得られる理由であると考察した。

第4章では移動相としてリン酸緩衝生理食塩水を用いた場合、タンパク質等の正電荷物質にはイオン交換効果が作用し、等電点の大きさの順で溶出される。タンパク質等の高分子物質を分離する場合、ローダミン B 等を共存させると、高分子物質に吸着し、タンパク質の保持が大きくなり、溶出が遅くなる。これは、共存物質が吸着することより、高分子物質の表面の電荷が変化するか、あるいは、高分子物質の構造が変化し、保持時間が変化するためであると考えられる。すなわち、高分子物質と他の物質を共存させることにより、高分子物質の保持時間を制御することができることを示した。

第5章では、総括である。本研究では分離しようとする物質とカラム内壁表面との弱い相互作用を上手く利用し、キャピラリーを長くすることで物質を高効率に分離することを可能にするシステムを見出した。分離のための相互作用が弱いという問題は、カラムの長さを長くすることで解消され、物質の分離能を向上させることができる。互いに分離しようとする物質の移動速度差が小さい場合でも、理論段数が高くなり、従来の方法では分離が困難であった物質の検出ピークを分けることも可能になる。

以上、本論文は独創的な研究内容について述べており、表面化学とバイオ分析化学の発展に大きく貢献するものと確信される。

よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。